

食道内腔で発生する活性酸化窒素種の食道粘膜上皮 防御機構に対する影響 : Ussing chamber モデルを 用いた検討

著者	伊藤 博敬
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第2755号
URL	http://hdl.handle.net/10097/50989

氏 名 伊藤 博敬

学 位 の 種 類 博士 (医学)

学位授与年月日 平成 22 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第 4 条第 1 項

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻

学位論文題目 食道内腔で発生する活性酸化窒素種の食道粘膜上皮防御機構に対する影響 : Ussing chamber モデルを用いた検討

論文審査委員 主査 教授 下瀬川 徹

教授 本郷 道夫 教授 佐々木 巖

論文内容要旨

【研究背景】食道粘膜上皮の細胞間隙拡大 (Dilation of intercellular spaces : DIS) は、胃食道逆流症患者において最も早期に認められる組織学的変化と考えられている。ヒトの胃食道接合部では、食物中に含まれる硝酸塩が唾液腸管再循環を経て、管腔内で一酸化窒素 (NO) を含む活性酸化窒素種 (RNOS) が産生される。胃食道逆流を伴う場合では、管腔内における RNOS の発生部位は胃食道接合部から下部食道へ移動することが報告されている。

【研究目的】ラット食道粘膜上皮を管腔内で産生された RNOS へ暴露させ、RNOS が食道粘膜上皮の細胞間隙拡大と食道粘膜上皮の防御機構へ及ぼす影響を検討した。

【研究方法】*ex vivo* の実験として、Ussing chamber を用いてラット食道粘膜上皮の防御機構に対する RNOS 暴露の影響を検討した。電気生理学的傷害の指標である粘膜抵抗、マンニトールを用いた粘膜上皮透過性の変化を検討した。亜硝酸塩は酸性条件下で種々の RNOS へ返還されることが知られている。Ussing chamber の管腔側は各種条件の溶液 (Krebs buffer、pH 1.5 塩酸のみ、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 1.0 mM、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 5.0 mM) を還流した。Ussing chamber を用いた検討終了後、電子顕微鏡を用いて食道粘膜上皮を観察し、細胞間距離を測定した。*in vivo* の実験として、ラット食道内にチューブを留置し、各種条件の溶液を還流した。還流後、電子顕微鏡を用いて食道粘膜上皮を観察し、細胞間距離を測定した。

【研究結果】*ex vivo* の実験においては、pH 1.5 塩酸のみの群では粘膜抵抗の低下、粘膜上皮透過性の亢進を認めたが、食道粘膜上皮の DIS は認められなかった。pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩群では、pH 1.5 塩酸のみの群と比較して、更なる粘膜抵抗の低下、粘膜上皮透過性の亢進と食道粘膜上皮の DIS が認められた。特に、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 5.0 mM 群では、粘膜抵抗、粘膜上皮透過性、細胞間距離のいずれにおいても pH 1.5 塩酸のみの群と比較して有意な変化を認めた。*in vivo* の実験においても、pH 1.5 塩酸のみの群では食道粘膜上皮の DIS は認められなかったが、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩群では細胞間距離が有意に拡大し、食道粘膜上皮の DIS が認められた。

【結論】本検討の結果より、ヒトにおいて胃食道逆流を伴う場合に唾液中の亜硝酸塩から産生される RNOS は食道粘膜上皮の DIS 形成の原因となる管腔内因子の一つである可能性が示唆された。

審査結果の要旨

博士論文題名 食道内腔で発生する活性酸化窒素種の食道粘膜上皮防御機構に対する影響

: Ussing chamber モデルを用いた検討

所属専攻・分野名 医科学専攻 内科病態学講座 消化器病態学分野

氏名 伊藤 博敏

食道粘膜上皮の細胞間隙拡大 (Dilation of intercellular spaces : DIS) は、胃食道逆流症患者において最も早期に認められる組織学的変化と考えられている。ヒトの胃食道接合部では、食物中に含まれる硝酸塩が唾液腸管再循環を経て、管腔内で一酸化窒素 (NO) を含む活性酸化窒素種 (RNOS) が産生される。胃食道逆流を伴う場合では、管腔内における RNOS の発生部位は胃食道接合部から下部食道へ移動することが報告されている。

そこで、ラット食道粘膜上皮を管腔内で産生された RNOS へ暴露させ、RNOS が食道粘膜上皮の細胞間隙拡大と食道粘膜上皮の防御機構へ及ぼす影響を検討した。

ex vivo の実験として、Ussing chamber を用いてラット食道粘膜上皮の防御機構に対する RNOS 暴露の影響を検討した。電気生理学的傷害の指標である粘膜抵抗、マンニトールを用いた粘膜上皮透過性の変化を検討した。亜硝酸塩は酸性条件下で種々の RNOS へ返還されることが知られており、Ussing chamber の管腔側は各種条件の溶液 (Krebs buffer、pH 1.5 塩酸のみ、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 1.0 mM、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 5.0 mM) を還流した。Ussing chamber を用いた検討終了後、電子顕微鏡を用いて食道粘膜上皮を観察し、細胞間距離を測定した。*in vivo* の実験として、ラット食道内にチューブを留置し、各種条件の溶液を還流した。還流後、電子顕微鏡を用いて食道粘膜上皮を観察し、細胞間距離を測定した。

結果であるが、*ex vivo* の実験においては、pH 1.5 塩酸のみの群では粘膜抵抗の低下、粘膜上皮透過性の亢進を認めたが、食道粘膜上皮の DIS は認められなかった。pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩群では、pH 1.5 塩酸のみの群と比較して、更なる粘膜抵抗の低下、粘膜上皮透過性の亢進と食道粘膜上皮の DIS が認められた。特に、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩 5.0 mM 群では、粘膜抵抗、粘膜上皮透過性、細胞間距離のいずれにおいても pH 1.5 塩酸のみの群と比較して有意な変化を認めた。*in vivo* の実験においても、pH 1.5 塩酸のみの群では食道粘膜上皮の DIS は認められなかったが、pH 1.5 塩酸と亜硝酸塩群では細胞間距離が有意に拡大し、食道粘膜上皮の DIS が認められた。

本検討の結果より、ヒトにおいて胃食道逆流を伴う場合に唾液中の亜硝酸塩から産生される RNOS は食道粘膜上皮の DIS 形成の原因となる管腔内因子の一つである可能性が示唆された。よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。